

Aus dem Hygienischen Institut der
Johannes Gutenberg Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. med. H. K l i e w e

Sterilisation mit Äthylenoxyd im Überdruckverfahren



INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung

der Doktorwürde in der Zahnheilkunde der
Hohen Medizinischen Fakultät der Johannes
Gutenberg Universität Mainz

vorgelegt von

Jürgen Kimmich
Bad Soden/Ts
1957



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554410_0099

STERILISATION
MIT
ÄTHYLENOXYD IM ÜBERDRUCKVERFAHREN

Datum des Diploms 20. Dez. 1957

Dekan : Prof. Dr. med. H.U. Köttgen
Referent : Privatdozent Dr. med. Theo Lammers
Correferent: Prof. Dr. med. H. Kliewe

I n n a l t

Sterilisation mit Äthylenoxyd im Überdruckverfahren

- I) Vor- und Nachteile bisheriger Sterilisationsverfahren
 - Hitzesterilisation
 - Verfahren zur Kaltsterilisation
- II) Äthylenoxyd als chemisches Sterilisationsmittel
 - 1) Physikalische und chemische Eigenschaften des Äthylenoxyds
 - 2) Abhängigkeit der keimtötenden Wirkung des Äthylenoxyds von der Temperatur, Konzentration und Feuchtigkeit
- III) Eigene Untersuchungen mit einem Äthylenoxyd-Kohlendioxid-Gasgemisch 1:10
 - 1) Beschreibung der Versuchsanordnung
 - a. Apparative Voraussetzungen
 - b. Vorbereitung der Testobjekte (Testkeime und Keimträger)
 - c. Einbringung der Testobjekte in den Drucktopf
 - d. Einwirkungszeiten und Temperatur
 - e. Nachweis des Sterilisationserfolges
 - 2) Untersuchungsergebnisse und ihre Bedeutung für die Praxis
- IV) Äthylenoxyd als Sterilisationsmittel eiweisshaltiger Flüssigkeiten und biologischer Produkte
- V) Zusammenfassung

I) Vor- und Nachteile bisheriger Sterilisationsverfahren (Hitze- und Kaltsterilisation)

Jahrzehntelang bemüht sich die Forschung, auf dem Gebiet der Sterilisation zwischen dem üblichen Verfahren mittels Hitze und dem Verfahren auf chemischem Wege mit Lösungen von Formalin, Alkohol oder Säuregemischen eine Lücke zu schliessen. Der mit Sicherheit erreichbare Sterilisationseffekt bei den erstgenannten Methoden schliesst aber einen Nachteil nicht aus, nämlich die unumgängliche Schädigung hitze- und feuchtigkeitsempfindlicher Instrumente und Materialien, die in der ärztlichen und zahnärztlichen Praxis in zunehmendem Masse Verwendung finden. Gedacht sei dabei an die vielzählige Verwendung von Instrumenten und Geräten aus Stoffen, wie Glas, Metall, Holz und Kunststoffen. Auf der anderen Seite lässt die Anwendung von keimtötenden Lösungen als chemisch wirksame Mittel viel zu beanstanden übrig. Zum einen ist der Sterilisationserfolg unzulänglich, da diese zwar gegenüber den vegetativen Formen der Bakterien eine gute Aktivität entwickeln, Sporen und Viren gegenüber aber zumeist unwirksam sind, zum anderen ist metallisches Instrumentarium einer beschleunigten Korrosion und Rostbildung ausgesetzt. Geruch und Toxizität sind weitere unangenehme Begleiterscheinungen chemischer Desinfektionsmittel.

An die Überlegungen, wie man einen guten Sterilisationseffekt ohne nachteilige Wirkung auf das Sterilisationsgut erreichen könnte, knüpfte man den Gedanken der Verwendung gasförmiger Substanzen mit bakterizider Eigenschaft, die bereits bei Zimmertemperatur eine gute Wirkung entfalten. Schon um die Jahrhundertwende benutzte man gasförmiges Formaldehyd und Schwefeldioxyd zur Desinfektion von Krankenräumen. Wegen der Unzulänglichkeit dieser Methode gegen Bakteriensporen schwand aber das Interesse an keimtötenden Gasen für die Kaltsterilisation in zunehmendem Masse.

In jüngerer Zeit haben die Autoren PHILLIPS und KAYE (26,27) die ersten Angaben über Äthylenoxyd von COTTON und ROARK im Jahre 1928 (5) überprüft, die damals dem gasförmigen Äthylenoxyd eine Bedeutung als Insektenmittel und zur Konservierung von Lebensmitteln gaben. Von dieser Zeit an erschienen gelegentlich Artikel in der Literatur, die sich auf die insectizide (37,3) und die bakterizide (30,16) Aktivität gasförmigen Äthylenoxyds bezogen. Später befassten sich eine ganze Reihe von Autoren mit dem Gas und seiner keimtötenden Eigenschaft, beschrieben aber in ihren Veröffentlichungen nicht die Bedingungen, die zur wirksamen Sterilisation führen und legten die Grenzen des Verfahrens nicht exakt fest (GRIFFITH und HALL (10,11,12,13) MRAK (25), VELU, LEPIGRE und BELLOCQ (33), YESAIR und WILLIAMS (36), ROBERTS, ALLISON ff.(29), FRAENKEL-CONRAT (8), WHELTON, PATTY ff.(35), MC.CORMICK (24). Diese Tatsache weckte das Interesse von PHILLIPS und KAYE, und 1949 (19,20,28) erschienen die ersten Versuchsergebnisse mit Äthylenoxyd unter vielfach veränderten Bedingungen.

Bereits 1955 wurde in unserem Institut die keimtötende Wirkung des Äthylenoxyds nachgewiesen (KLIEWE und LAMMERS) (22). Hierbei wurden Äthylenoxyd-Kohlensäuregemische in Konzentrationen von 40 - 60% Äthylenoxyd bei Einwirkungszeiten von 4 - 8 Stunden als sterilisierend wirksam befunden. Dieses Verfahren hatte aber den Nachteil der Anwendung relativ

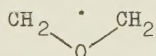
hoher Konzentrationen von Äthylenoxyd und langer Einwirkungszeiten. Weiterhin macht die leichte Entflammbarkeit des Äthylenoxyds dieses Verfahren unter praktischen Verhältnissen nur bedingt durchführbar. In Weiterentwicklung des damals im Hygiene-Institut Mainz angewendeten Verfahrens wurde von LAMMERS und GEWALT (mündl. Mitteilung) das Äthylenoxyd in Form einer Mischung von 10% Äthylenoxyd und 90% Kohlendioxyd angewendet, wobei die zur Sterilisation notwendigen Konzentrationen dadurch erreicht wurden, dass dieses Gasgemisch in einem Drucktopf bei 5 Atü. zur Einwirkung kam. Aufgabe unserer Untersuchungen ist es, die sterilisierende Wirkung dieses Verfahrens zu untersuchen und die Vor- und Nachteile herauszustellen.

II) Äthylenoxyd als chemisches Sterilisationsmittel

Äthylenoxyd stellt sowohl in flüssigem als auch in gasförmigem Zustand einen keimtötenden und insektiziden Wirkstoff dar. Da wir es hier mit einer chemischen Verbindung zu tun haben, ist die sterilisierende Wirkung des Äthylenoxyds von chemischen Gesetzmässigkeiten abhängig.

1) Physikalische und chemische Eigenschaften des Äthylenoxyds.

Äthylenoxyd (4) ist bei gewöhnlicher Temperatur ein farbloses Gas, das bei 10,8° C schnell flüssig wird und bei -111,3° C gefriert. Sein spezifisches Gewicht ist 0,8838. Die Flüssigkeit ist mit Wasser und mit allen gewöhnlichen organischen Lösungsmitteln in jedem Verhältnis mischbar. Die Verbindung hat einen ziemlich angenehmen ätherischen Geruch und eine Inhalationstoxizität wie etwa die von Ammoniak (32,34, 9). Äthylenoxyd kann auf der Haut Blasen bilden, besonders, wenn wässrige Lösungen auf die Kleidung verschüttet werden (SEXTON und HENSON (31)) oder Material, welches es absorbiert hatte, gegen die Haut gehalten wird. Es hat die Formel



und damit stellt es den einfachsten Äther der Ätherreihe oder ein Epoxyd dar. Die Verbindung wird wie Formaldehyd im grossen hergestellt, bei der Synthese anderer organischer Chemikalien in reichem Masse gebraucht und ist entweder in reinem Zustand zu einer Flüssigkeit in Zylindern zusammengepresst oder als eine Mischung von 10% Äthylenoxyd und 90% CO₂ in U.S.A. unter dem Namen "Carboxyd" im Handel. Der Grund für die Nützlichkeit letztgenannter Mischung liegt darin, dass Äthylenoxyd leicht brennbar ist und nur 3% seines Dampfes genügen, um einen Brand hervorzurufen, wenn es komprimiert wird mit explosiver Gewalt. In dieser Beziehung gleicht es in seinem Verhalten sehr dem gewöhnlichen Diäthyläther. Diesem Phänomen kann vorgebeugt werden, wenn genügend Kohlendioxyd vorhanden ist. Eine 10%ige Mischung von Äthylenoxyd in Kohlendioxyd kann mit Luft in jedem Verhältnis gemischt werden, ohne je ein entzündliches Stadium zu passieren (JONES und KENNEDY, 1930), (17,18).

Aus diesem Grunde wurde bisher reines Äthylenoxyd nur als Sterilisationsmittel in kleinen Räumen gebraucht, wo relativ wenige Gramm der Verbindung hineingebracht wurden (30 g ist die Höchstmenge der reinen Verbindung, die in diesen Laboratorien erlaubt ist) oder in luft-leeren Kammern, aus denen die Luft entfernt, ehe das reine Gas eingelassen wurde. In grösseren Kammern, in denen sich Luft befand, wurde Carboxyd als Vorsichtsmassregel zur Sicherung gegen eine plötzliche Explosion verwendet. Die Wirkungsweise des Carboxyds war aus anschliessend genannten Gründen sehr langsam.

2) Abhängigkeit der keimtötenden Wirkung des Äthylenoxyds von der Einwirkungszeit, Temperatur, Konzentration und Feuchtigkeit

PHILLIPS und KAYE (28) verwendeten, wie bereits berichtet, reines flüssiges Äthylenoxyd bestimmter Menge, das sie mittels Pipette im unterkühlten Raum in Glasgefässe brachten, in denen sich Testobjekte befanden. In erster Linie nahmen sie *Bacillus globii* Sporen, die für ihre hohe Chemo- und Thermoresistenz bekannt sind. Sie notierten nur die Zeit von dem Augenblick an, nachdem das flüssige Äthylenoxyd in den gasförmigen Zustand übergetreten war und gleichzeitig das Gas die von ihnen festgesetzte Versuchstemperatur angenommen hatte, bis zu dem Augenblick einer einwandfreien Sterilität. Somit erhielten sie die Einwirkungszeit. Die kurze Zeit der Erwärmung des Gases konnte unberücksichtigt bleiben, da das Gas bei tieferen Temperaturen keine bedeutungsvolle Wirksamkeit entfaltet. Die Autoren machten Sterilisationsteste bei 37°C , 25°C und 5°C . Ihre Messergebnisse deckten sich mit der in der Chemie allgemein bekannten Tatsache, dass die Reaktionsgeschwindigkeit von Stoffen gemäss den äusseren Bedingungen verschieden gross ist. Durch Steigerung der Temperatur wird die Geschwindigkeit der chemischen Stoffumsetzungen grösser, was besagt, dass unter sonst gleichen Bedingungen eine Temperaturerhöhung um 10°C die pro Zeiteinheit umgesetzte Stoffmenge verdoppelt oder die gleiche Stoffmenge in der Hälfte der Zeit umgesetzt wird. Speziell auf das Äthylenoxyd bezogen, fanden PHILLIPS und KAYE (28), dass sich die Wirksamkeit dieses Gases bei einer Temperatursteigerung um 10°C um das 2,74-fache steigert.

Wird die Temperatur konstant gehalten, so kann man durch Änderung der Konzentration den Reaktionsablauf beschleunigen oder verzögern. Die Chemie lehrt, dass die Geschwindigkeit, mit der ein Körper reagiert, proportional seiner Konzentration ist. PHILLIPS bestätigte die Gültigkeit dieses Satzes für die Beziehung Äthylenoxyd - Keime, denn er fand, dass bei einer Erhöhung der Äthylenoxydkonzentration um das Doppelte die Zeit, die er zur Erreichung einer völligen Sterilität benötigte, sich auf die Hälfte verkürzte. Die Konzentration ist bei Gasen immer dem Partialdruck proportional.

Es gibt zwei Möglichkeiten, eine sterilisierend wirksame Konzentration zu bekommen:

1. Die erste Möglichkeit bietet die Verwendung von reinem Äthylenoxyd, das in flüssigem oder gasförmigem Zustand in absolut sorgfältig verschlossenen Behältern oder Räumen, je nach Grösse und Menge des zu sterilisierenden Materials, zur Einwirkung gebracht wird, um die Konzentration während der für die Behandlung notwendigen Zeit konstant zu erhalten. Voraus ging eine vollständige oder nur teilweise Evakuierung der Luft, je nachdem, ob ein hohes oder geringes Vakuum erwünscht war. Eine maximale Konzentration des Äthylenoxyds von 1,96 g per Liter (bei 0° C, 760 mm Hg) machte zur Voraussetzung, dass die Luft vorher vollständig entfernt wurde. Dieses Verfahren wies aber nicht unerhebliche Mängel auf. Zum ersten lag die Gefahr einer Explosion, liess man auch nur eine geringe Menge Residualluft im Behälter zurück, wie bei allen Äthylenoxyd-Luftgemischen, sehr nahe, zum anderen ergab eine Evakuierung des Behälters auf annähernd 0 mm Hg eine unliebsame Verlängerung der Einwirkungszeit. Der Grund dafür ist darin zu suchen, dass

F e u c h t i g k e i t zu einem gewissen Grad den Sterilisationsvorgang beschleunigt oder überhaupt ermöglicht (36,14). Mangel an Feuchtigkeit und ein Übermass von Feuchtigkeit erschweren die Sterilisation zeitlich um ein Vielfaches. Als Träger der Feuchtigkeit kommen Luft und Testobjekte, einschliesslich Sporen und Bakterien, in Betracht. Da mit dem Vakuumverfahren einesteils die Luft fast gänzlich entfernt wurde, anderenteils die keimbeladenen Testobjekte unter Vakuum aber austrocknen, wird es verständlich, warum der Feuchtigkeitsgehalt absank, bzw. vollständig schwand, und nur schwer eine oder keine Sterilisation zu erreichen war. Der Wert, der die günstigste Bedingung darstellt, liegt bei 28% relative Feuchtigkeit. *Bacillus globii* Sporen wurden nach KAYE und PHILLIPS (19) bei 28% relative Feuchtigkeit viermal so schnell abgetötet wie bei 65% und fast zehnmal so schnell wie bei 97%.

2. Die zweite Möglichkeit sieht die Verwendung eines Äthylenoxyd-CO₂-Gemisches vor (PHILLIPS und KAYE, 26). Die beiden Gasanteile verhalten sich hier wie 1:10. Die Verwendung dieses Gemisches hat den Vorteil, dass es mit Luft in jedem Verhältnis mischbar und nicht entflammbar ist, bringt aber den Nachteil mit sich, dass es mit dem gewöhnlichen Vakuumverfahren eine maximale Konzentration des Äthylenoxyds entsprechend seinem geringeren Anteil (10%) von nur 0,196 g/l (bei 0° C, 760 mm Hg) zulässt, eine Konzentration, mit der man die Erfolge von PHILLIPS und KAYE, die mit reinem Äthylenoxyd arbeiteten, weder erreichen, viel weniger übertreffen würde. Der höchstmögliche Partialdruck würde 7,6 mm Hg betragen, ein Druck, der erst dann wirksam wäre, wenn man die Zeit vom Beginn der Sterilisation bis zur Erreichung einer einwandfreien Sterilität verlängern würde. PHILLIPS (28) fand Zeitwerte für *Bacillus globii* Sporen, die bei einer Konzentration des Äthylenoxyds von 88,4 mg/l bei 37° C über der 6-Stundengrenze lagen. Für vegetative Formen der Bakterien lagen die Werte niedriger. Eine Erhöhung der Konzentration erscheint bei Verwendung dieses Gasgemisches also notwendig, die aber nur durch eine Verdich-

tung des Gasgemisches unter Anwendung von Druck erreicht werden kann. Diese Möglichkeit nützten wir zur Sterilisation aus.

III) Eigene Untersuchungen mit einem Gasgemisch von 10% Äthylenoxyd und 90% Kohlendioxyd bei 5 Atü.

Dieses Gasgemisch ist praktisch nicht entflammbar, so dass mit ihm völlig gefahrlos gearbeitet werden kann.

1) Beschreibung der Versuchsanordnung

Die in unserem Institut angewendete Sterilisationsmethode mit einem Äthylenoxyd-Kohlendioxyd-Gemisch im Verhältnis 1:10 bei 5 Atü. setzte folgendes voraus:

a. Apparative Voraussetzungen

Die Apparatur, mit der unsere Versuche durchgeführt wurden, bestand im wesentlichen aus einem Druckkessel mit einem Fassungsvermögen von ca. 3 Litern. (S.Abbild). Ein Wasserbad mit einem Kontaktthermometer garantierte eine konstante von uns festgelegte Versuchstemperatur. Die Energie lieferten uns zwei Tauchsieder. In dieses Wasserbad wurde unser Druckkessel eingebracht. Das Wasser kam mit der äusseren Wandung des Druckkessels in direkte Berührung; wir erreichten eine gute Leitfähigkeit und hatten nach etwa 30 Minuten Anheizzeit die gewünschte Temperatur im Innern des Kessels. Zu erwähnen bleibt, dass zwischen Wasser und der inneren Wandung des Kessels ein Temperaturgefälle von 2° C auftrat, welches bei jeder Versuchstemperatur konstant blieb. Diese Tatsache liess sich experimentell leicht feststellen: Das Kontaktthermometer zeigte die von uns gewählte Temperatur an, ein Maximalthermometer im Druckkessel eine negative Differenz von 2° C. War eine Versuchstemperatur von 45° C erwünscht, mussten wir unser Kontaktthermometer auf 47° C einstellen. Ein Rührwerk sorgte für die gleichmässige Temperatur des Wassers. Den bestehenden Druck im Kessel zeigte ein Manometer in Atü. an. Das Gasgemisch war in einer Druckflasche vorrätig. Das nach Ende des Versuchs überflüssig gewordene Gas leiteten wir in einen Absorber, der eine Lösung von CaCl_2 in Wasser enthielt (6,7,23).

b. Vorbereitung der Testobjekte (Testkeime und Keimträger)

Wir wählten für unsere Versuche drei Arten von Testkeimen:

1) Vegetative Keime:

Staphylococcus aureus hämolyticus
B. pyocyaneus
B. proteus

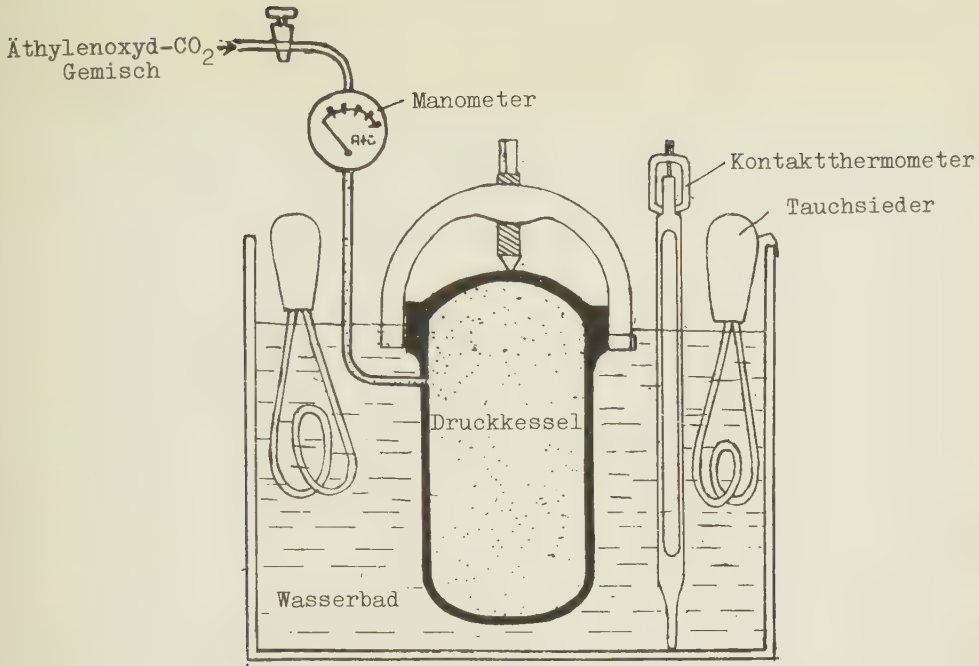
2) Bac. mesentericus Sporen

3) Sporenerde

Als Keimunterlagen dienten uns:

1) Leinenlappchen

2) Injektionsspritzen



3) Metallteile mit rauher Oberfläche (Wurzelkanalinstrumente, Rosenbohrer)

Die Infektion der verschiedenen Keimunterlagen geschah wie folgt:

Die Leinenlappchen legten wir in eine Kultur einer Bouillon der Testkeime. Die Infektion der Lappchen mit Sporenerde erfolgte derartig, dass wir Humuserde im Verhältnis 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten und diese Lösung 15 Minuten in das Lappchen einziehen lassen. Nach Entnahme der Keimträger aus der Infektionslösung liessen wir einen Teil im Brutschrank bei 37° C antrocknen, ein anderer wurde feucht der Einwirkung des Äthylenoxyds ausgesetzt.

Die Injektionsspritzen infizierten wir mit einer Aufschwemmung von Sporenerde in obengenanntem Verhältnis in der Weise, dass sowohl die Kanüle als auch die Injektionsspritze benetzt wurden. Die so infizierten Spritzen wurden einmal feucht der Einwirkung des Äthylenoxyds ausgesetzt, ein anderes Mal im Brutschrank angetrocknet und in relativ trockenem Zustand sterilisiert.

Die Sporenerde, die wir ohne Keimunterlage dem Äthylenoxyd-CO₂-Gemisch aussetzten und solche, die der Infektion von Metallteilen diente, verwendeten wir in dreierlei Aufbereitungen:

Erde, die tagelang im Exsikkator getrocknet wurde und praktisch frei von Feuchtigkeit war;

Erde, die an der Luft 48 Stunden bei einer relativen Luftfeuch-

tigkeit von 50-60% getrocknet wurde;
und letztlich
Erde, die mit Aqua dest. angefeuchtet war.

c. Einbringung der Testobjekte in den Drucktopf

Die auf diese Weise behandelten Testobjekte brachten wir vor Beginn des Versuchs unter verschiedenen Voraussetzungen in den Drucktopf.

Die feuchten und trockenen Leinenläppchen sterilisierten wir in unverschlossenen Wassermannröhrchen. Parallelversuche mit Röhrchen, die mit Watte verschlossen waren, sollten zeigen, ob das Äthylenoxyd-CO₂-Gemisch unter diesen erschwerten Bedingungen imstande ist, die Läppchen in derselben Einwirkungszeit keimfrei zu machen oder ob sich ein Wirkungsverlust einstellt. Sämtliche Sterilitätsversuche mit infizierten Leinenläppchen fanden in Anwesenheit von Feuchtigkeit in Form von 2 ccm Wasser in einem mit Watte verschlossenen Reagenzgläschen statt.

Die keimbeladenen Injektionsspritzen unterzogen wir ebenfalls unter verschiedenen Bedingungen der Behandlung mit unserem Gasgemisch. Interessant schien es für uns, die Wirksamkeit des Äthylenoxyds in Abhängigkeit von der Feuchtigkeit zu studieren. Wir führten unsere Versuche mit infizierten Injektionsspritzen einmal mit trockenem Gas, ein anderes Mal so durch, dass wir die Luft mit Feuchtigkeit anreicherten, indem wir eine mit Wasser gefüllte Petrischale in den Druckkessel gaben. Eine weitere Variationsmöglichkeit sahen wir darin, dass wir die infizierten Spritzen in zusammengesetztem (injektionsbereitem) oder in zerlegtem Zustand, wobei wir Kanüle, Stempel und Zylinder voneinander trennten, der Einwirkung des Äthylenoxyds aussetzten. Die Annahme, dass das Gas in geschlossene Petrischalen nur erschwert einzudringen imstande wäre, versuchten wir mit offenen Petrischalen, die dem Gas freien Zutritt zu den Testkeimen gestatteten, und geschlossenen Schalen widerlegt bzw. bestätigt zu finden.

Die keimtötende Wirkung des Äthylenoxyds auf infizierte Metallteile versuchten wir nachzuweisen, indem wir diese in offene Petrischalen legten und das Gasgemisch bei geringer bzw. maximaler relativer Feuchtigkeit einwirken liessen.

d. Einwirkungszeiten, Temperatur und Konzentration des verwendeten Gemisches

Wir spülten zunächst, nachdem die Apparatur die gewünschte Temperatur von 45°, 55° bzw. 65° C erreicht hatte, und das vorbereitete Sterilisationsgut in den Druckkessel eingebracht war, zum Zwecke der Verdünnung der Luft mit dem Äthylenoxyd-CO₂-Gemisch einmal so durch, dass am Ende dieses Vorgangs ein Luftanteil von 0,5 Atm. im Druckkessel verblieb. Erst daraufhin füllten wir den Kessel mit

dem Gasgemisch auf 5 Atü. auf. Es entfielen davon 5,5 Atm. auf Luft. Theoretisch wäre, wenn man davon absieht, dass Äthylenoxyd bei 0° C nicht gasförmig sein kann, bei 0° C, 760 mm Hg und mittels Vakuum mit reinem gasförmigen Äthylenoxyd eine Konzentration von 1,96 g/l zu erreichen, da 1 Mol eines Gases oder 44 g Äthylenoxyd einen Raum von 22,4 Litern einnehmen. Mit unserem gasförmigen Äthylenoxyd-CO₂-Gemisch wäre bei denselben Bedingungen eine Konzentration von 0,196 g/l zu bekommen. Da bei einem am Manometer abgelesenen Druck von 5 Atü. der Partialdruck des Äthylenoxyd-CO₂-Gemisches 5,5 Atm. beträgt, ist die erreichte Konzentration des Äthylenoxyds ungefähr

$$0,196 \times 5,5 = \underline{1,08 \text{ g/l.}}$$

Die Temperatur als Variante ist bei dieser Rechnung nicht berücksichtigt worden.

Wir legten uns bei unseren Versuchen auf drei verschiedene Temperaturen fest und hatten während des Sterilisationsvorganges im Drucktopf Äthylenoxydkonzentrationen von

885,6 mg/l	bei 45° C
842,4 mg/l	bei 55° C
799,2 mg/l	bei 65° C

denn die Erwärmung von Gasen hat pro Grad eine Ausdehnung von $\frac{1}{273}$ seines Volumens zur Folge. Da Volumen und Druck aber konstant blieben, konnte nur die Dichte des Äthylenoxyd-CO₂-Gemisches, und damit die Konzentration des Äthylenoxyds, abnehmen.

Bezüglich des relativen Feuchtigkeitsgehaltes im Druckkessel während der Sterilisation bei 5 Atü. konnten wir, da die Luft in unserem Institut durchschnittlich einen relativen Feuchtigkeitsgehalt von 55% hatte, ein Absinken der relativen Feuchtigkeit des Äthylenoxyd-CO₂-Luftgemisches auf 1,72% errechnen. Die stärkste keimtötende Wirkung entfaltet Äthylenoxyd aber bei einer relativen Feuchtigkeit von 28% (KLIEWE u.a.). Folglich waren wir gezwungen, das Äthylenoxyd-CO₂-Luftgemisch im Drucktopf anzufeuchten.

e. Der Nachweis des Sterilisationserfolges

Den Nachweis des Sterilisationserfolges erbrachten wir durch Verarbeitung des behandelten Materials in flüssigen bzw. auf festen Nährböden.

Als Nährböden wählten wir

- 1) gewöhnliche Nährbouillon
zum Nachweis der Aerobier;
- 2) Thioglykolat-Nährbouillon
zum Nachweis anaerober Keime.

Auch versuchten wir, mit Hilfe der Keimzählmethode Anhaltspunkte für die Schnelligkeit der keimtötenden Wirkung des Äthylenoxyds durch Bestimmung der Keimzahl der Lämpchen zu gewinnen. Dabei gin-

gen wir so vor, dass wir das behandelte - und zur Kontrolle auch das unbehandelte - Leinenläppchen in 0,5 ccm physiologischer NaCl-Lösung auskneteten und von dieser Flüssigkeit eine Öse voll (0,4 mm Ø) auf der Oberfläche von Blutagarplatten gleichmässig verimpften.

Die Ablesung der Ergebnisse erfolgte nach 24- bzw. 48-stündiger und 8-tägiger Bebrütung bei 37° C.

Tabelle I) Keimtötende Wirkung des Äthylenoxyds auf infizierte Leinenläppchen bei 5 Atü. und maximaler relativer Luftfeuchtigkeit

A) Versuche mit vegetativen Formen von Bakterien

1. Testkeim: Staphylococcus aureus hämolyticus

a) Einwirkungstemperatur : + 45° C
Äthylenoxydkonzentration: 865,6 mg/l.

		(1)		(2)	
<u>Läppchen</u> :		feucht		lufttrocken	
		A°	B°	A°	B°
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>	15'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	30'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	40'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	50'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	50'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	75'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	75'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	100'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	100'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	125'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	125'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	150'	0	—	0	—
		0	—	0	—
	150'	0	—	0	—
		0	—	0	—
<u>Kontrolle:</u>		80	+	11	+
		Rasen	+	Rasen	+

+ Keine Keimabtötung
- Sterilität

A* Blutagarplatte. Die Zahl in dieser Rubrik entspricht der Anzahl der gewachsenen Kolonien

B* Subkultur in gew. Nährbouillon

b) Einwirkungstemperatur : + 55° C
Äthylenoxydkonzentration: 842,4 mg/l.

<u>Läppchen</u> :	(3)		(4)	
	feucht		lufttrocken	
	offen*	geschlos- sen **	offen*	geschlos- sen **
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>				
30'	-	-	-	-
30'	-	-	-	-
40'	-	-	-	-
40'	-	-	-	-
45'	-	-	-	-
60'	-	-	-	-
90'	-	-	-	-

2. Testkeim: B. pyocyaneus

Einwirkungstemperatur : 55° C
Äthylenoxydkonzentration: 842,4 mg/l.

<u>Läppchen</u> :	(5)
	trocken
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>	
5'	+
10'	+
15'	-
20'	-
25'	-

+ Keine Keimabtötung

+ Befunde wechseln

- Sterilität

A* Blutagarplatte. Die Zahl in dieser Rubrik entspricht der Anzahl der gewachsenen Kolonien

B* Subkultur in gew. Nährbouillon

* Die Läppchen befanden sich während der Sterilisation in offenen Wassermann-Röhrchen

** Die Läppchen befanden sich während der Sterilisation in mit Watte verschlossenen Wassermann-Röhrchen

3. Testkeim: B. proteus

Einwirkungstemperatur : 45° C

Äthylenoxydkonzentration: 865,6 mg/l.

(6)

Läppchen :

trocken

Einwirkungszeit
in Minuten:

5'	+
10'	±
15'	-
20'	-
25'	-

B) Versuche mit Sporen

1. Testkeim: Bac. mesentericus Sporen

a) Einwirkungstemperatur : + 45° C

Äthylenoxydkonzentration: 865,6 mg/l.

(7)

(8)

Läppchen :

feucht

lufttrocken

Einwirkungszeit
in Minuten:

		feucht		lufttrocken		Ablesung nach:
		A*	B*	A*	B*	
15'	90 Rasen	+	+	0	+	24 Stdn.
		0	+	0	+	48 Stdn.
30'	40	0	+	0	+	
40'	0	0	-	0	+	
50'	0	0	-	0	-	
50'	0	0	-	0	+	
75'	0	0	-	0	-	
75'	0	0	-	0	-	
100'	0	0	-	0	-	
100'	0	0	-	0	-	
125'	0	0	-	0	-	
125'	0	0	-	0	-	
150'	0	0	-	0	-	
150'	0	0	-	0	-	
	50	+	+	30	+	
<u>Kontrolle:</u>	Rasen	+		Rasen	+	

A* Blutagarplatte. Die Zahl in dieser Rubrik entspricht der Anzahl der gewachsenen Kolonien

B* Subkultur in gew. Nährbouillon

b) Einwirkungstemperatur : + 55° C
Äthylenoxydkonzentration: 842,4 mg/l.

<u>Läppchen</u> :	(10)		(9)	
	feucht		lufttrocken	
	offen*	geschlos- sen	offen*	geschlos- sen
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>				
30'	+	+	-	-
30'	+	+	+	-
40'	-	-	+	+
45'	-	-	-	-
60'	-	-	-	-
90'	-	-	-	-

- * Die Läppchen befanden sich während der Sterilisation in offenen Wassermann-Röhrchen
 ** Die Läppchen befanden sich während der Sterilisation in mit Watte verschlossenen Wassermann-Röhrchen

2. Testkeim: Sporenerde

a) Einwirkungstemperatur : + 45° C
Äthylenoxydkonzentration: 865,6 mg/l.

<u>Läppchen</u> :	(11)	
	feucht	
	A*	T*
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>		
15'	50 Rasen	+
30'	1 5	+
40'	0 0	+
50'	0 0	+
50'	0 0	-
75'	0 0	+
75'	0 0	-
100'	0 0	-
125'	0 0	-
125'	0 0	-
125'	0 0	-
150'	0 0	-
150'	0 0	-
<u>Kontrolle:</u>	80 Rasen	+

A* Blutagarplatte. Die Zahl in dieser Rubrik entspricht der Anzahl der gewachsenen Kolonien
 T* Subkultur in Thioglykolat

b) Einwirkungstemperatur : 55° C
 Äthylenoxydkonzentration: 842,4 mg/l.
 (12)

<u>Läppchen</u> :	feucht	
	offen*	geschlossen**
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>	30' +	+
	30' +	+
	40' +	+
	45' +	+
	60' -	-
	90' -	-

c) Einwirkungstemperatur : + 65° C
 Äthylenoxydkonzentration: 799,2 mg/l.
 (13) (14)

<u>Läppchen</u> :	mit angefeuchteter Erde infiziert		trocken
	*	**	
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>	16' + +	+ +	+ +
	20' + +	+ +	± +
	30' - +	- -	± +
	60' - -	- -	+ +
	90' - -	- -	- -

- Die Läppchen befanden sich während der Sterilisation in offenen Wassermann-Röhrchen
- Die Läppchen befanden sich während der Sterilisation in mit Watte verschlossenen Wassermann-Röhrchen

Tabelle II) Keimtötende Wirkung des Äthylenoxyds auf Sporenerde bei 5 Atü., Äthylenoxydkonzentration 799,2 mg/l und einer Einwirkungstemperatur von + 65° C.

1. Sporenerde im Exsikkator tagelang getrocknet

(1)

	trocken	wieder angefeuchtet
<u>Einwirkungszeit in Minuten:</u>		
30'	+	-
60'	+	-
90'	+	-
120'	+	-
	trocken***	
60'	+	
75'	+	

2. Sporenerde lufttrocken

(2)

<u>Einwirkungszeit in Minuten:</u>	30'	-
	60'	-
	90'	-
	120'	-

3. Sporenerde angefeuchtet

(3)

trockene Sporenerde
in Gegenwart einer
Petrischale mit H₂O

<u>Einwirkungszeit in Minuten:</u>	16'	-	+	+
	30'	-	+	+
	60'	-	+	-
	90'	-	-	-
	120'	-		

... Offene Petrischale mit Wasser befand sich während der Sterilisation im Drucktopf

Tabelle III) Keimtötende Wirkung des Äthylenoxyds auf mit Sporen-
erde infizierte Injektionsspritzen bei 5 Atü.,
Äthylenoxydkonzentration 799,2 mg/l und Einwirkungs-
temperatur von 65° C.

1. <u>Spritzen zusammengesetzt sterilisiert</u>				
(1)				
feucht °			feucht	angetrocknet, vor Steril. angefeuchtet
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>	30'	+	+	+
	30'	+	+	+
	45'	+	+	+
	90'		-	
	105'	-	-	-

2. <u>Spritzen zusammengesetzt sterilisiert in Ge-</u> <u>genwart von Feuchtigkeit in Form einer offe-</u> <u>nen Petrischale mit Wasser</u>				
(2)				
feucht			lufttrocken, vor Steril. mit H ₂ O durchgespritzt	
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>	30'	+		
	45'	+		
	60'	+		+
	60'	+	+	-

3. <u>Spritzen getrennt sterilisiert</u> <u>(Kanüle, Stempel und Zylinder)</u>				
(3)				
feucht°			feucht	
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>	30'	+	+	+
	30'	+	+	+
	45'	-		+
	90'	-		-

° Die Spritze wurde in geschlossener Petrischale sterilisiert

Tabelle IV) Keimtötende Wirkung des Äthylenoxyds auf mit Sporenerde infizierte Metallteile mit rauher Oberfläche (Wurzelkanalinstrumente und Rosenbohrer) bei 5 Atü., Äthylenoxydkonzentration 799,2 mg/l und Einwirkungstemperatur von + 65° C.

1. Metallteile mit im Exsikkator getrockneter Sporenerde infiziert

(1)

Einwirkungszeit
in Minuten:

30'	+	+	+	+
60'	+	+	+	+
90'	+	+	+	
120'	+	+		

2. Metallteile mit Sporenerde infiziert, die an der Luft 48 Stunden lang trocknete (relative Luftfeuchtigkeit 50 - 60%)

Die Sterilisation erfolgte in Gegenwart von Feuchtigkeit in Form einer offenen Petrischale mit Wasser.

(2)

Einwirkungszeit
in Minuten:

30'	-	-
45'	±	-
60'	-	-

* Spritze wurde in offener Petrischale sterilisiert

3. Metallteile mit feuchter Erde infiziert

(3)

Einwirkungszeit
in Minuten:

30'	-	
60'	-	-
90'	-	+
120'	-	-

Aus den angeführten Tabellen I - IV geht hervor:

Äthylenoxyd-Kohlendioxyd-Gemische im Verhältnis 1:10 töten bei 5 Atü. und Temperaturen von 45-65° C vegetative Keime und unter ganz bestimmten Bedingungen auch Sporen ab.

An L e i n e n l ä p p c h e n als Keimunterlage haftende v e g e t a t i v e K e i m e werden unter den hier gewählten Bedingungen und Äthylenoxydkonzentrationen von 885,6 mg/l und 842,4 mg/l bereits innerhalb einer Einwirkungszeit von 15 Minuten abgetötet (vergl. Tab.I,1-6). Die Abtötung von S p o r e n erfordert erheblich

längere Einwirkungszeiten. Sie ist aber nicht nur von der Einwirkungszeit, der Äthylenoxydkonzentration und der Einwirkungstemperatur abhängig, sondern auch von dem Feuchtigkeitsgehalt des zu sterilisierenden Materials.

In lufttrockenem Zustand werden *Bac. mesentericus* Sporen auf Leinenlappchen bei einer Einwirkungstemperatur von 45°C und einer Äthylenoxydkonzentration von 865,6 mg/l innerhalb von 75 Minuten, bei einer Einwirkungstemperatur von 55°C und einer Äthylenoxydkonzentration von 842,4 mg/l innerhalb von 40 Minuten steril (vergl. Tab. I, 8 und 9). Unter denselben Bedingungen werden feuchte Lappchen innerhalb einer Einwirkungszeit von 40 Minuten steril (siehe Tab. I, 7 und 10).

Mit Sporen der infizierte Leinenlappchen bekamen wir bei Einwirkungszeiten von 45°C und der entsprechenden Äthylenoxydkonzentration nach 75 Minuten, bei 55° nach 60 Minuten und bei 65°C nach 30 Minuten keimfrei (vergl. Tab. I, 11, 12 und 13).

Wesentliche Unterschiede der Sterilisationszeiten bei lufttrockenen und feuchten Leinenlappchen konnten wir nicht beobachten. Die Ursache dafür ist darin zu suchen, dass infolge der Luftfeuchtigkeit, die sich bei uns zwischen 50 und 60% relativer Luftfeuchtigkeit bewegte, die Keimträger vor der Sterilisation so viel Feuchtigkeit aufnahmen, dass das Äthylenoxyd seine Wirksamkeit entfalten konnte. Ausserdem lief der Sterilisationsvorgang in Gegenwart von 2 ccm Wasser in einem mit Watte verschlossenen Reagenzglas ab (die Wirkung des Äthylenoxyds ist, wie alle chemischen Reaktionen an die Anwesenheit von Wasser gebunden).

Andere Bedingungen lagen dann vor, wenn wir im Exsikkator getrocknete Sporen der ohne Keimunterlage, die praktisch keine Feuchtigkeit mehr enthielt, dem Äthylenoxyd aussetzten.

Trockene Sporen der wurde bei einer Einwirkungstemperatur von 65°C und einer Einwirkungszeit von 120 Minuten nicht steril (vergl. Tab. II, 1). Wir konnten weiter feststellen, dass bei nachträglichem Anfeuchten dieser Erde die Sporen schon innerhalb von 30 Minuten bei sonst gleichen Bedingungen abgetötet werden (vergl. Tab. II, 1).

Sporen der, die wir an der Luft bei einem relativen Feuchtigkeitsgehalt von durchschnittlich 55% trockneten, verhielt sich so, dass wir bereits innerhalb von 30 Minuten bei 65°C und einer Konzentration des Äthylenoxyds von 799,2 mg/l eine 100%ige Keimabtötung vermerken konnten (vergl. Tab. II, 2).

Trockene Sporen der wurde bei maximaler relativer Luftfeuchte durch eine offene mit Wasser gefüllte Petrischale unter den sonst gleichen Bedingungen innerhalb von 90 Minuten steril, während angefeuchtete Erde bereits bei 16 Minuten Sterilität ergab (vergl. Tab. II, 3).

Die keimtötende Wirkung des Äthylenoxyds auf mit Sporen der infizierte Injektions spritzen untersuchten wir bei einer Einwirkungstemperatur von 65°C und einer Äthylenoxyd-

konzentration von 799,2 mg/l. Zur Sterilisation von zusammengesetzten (injektionsbereiten) Spritzen, die mit feuchter Erde infiziert waren, benötigten wir 90 Minuten. Einen Unterschied der Sterilisationszeiten von Spritzen, die sich während der Sterilisation in einer geschlossenen Petrischale befanden und Spritzen, die wir in einer offenen Petrischale sterilisierten, konnten wir nicht feststellen (vergl. Tab. III, 1 und 2). Rascher steril - innerhalb von 45 Minuten - wurden Spritzen, wenn wir Kanüle, Stempel und Zylinder getrennt und angefeuchtet der Wirkung des Äthylenoxyds aussetzen und gleichzeitig eine Petrischale mit Wasser in den Drucktopf brachten (vergl. Tab. III, 3). Das Fehlen von zusätzlicher Feuchtigkeit in Form von Wasser im Drucktopf hatte zur Folge, dass sich innerhalb von 90 Minuten noch Wachstum von Sporen zeigte (vergl. Tab. III, 3).

Mit Sporen der Erde infizierte Metallteile, wie Wurzelkanalinstrumente und Rosenbohrer, waren ebenfalls mit Äthylenoxyd dann nicht sterilisierbar, wenn die Erde vor der Sterilisation im Exsikkator getrocknet wurde (vergl. Tab. IV, 1). Das bedeutet, dass Instrumente dann nicht mit Äthylenoxyd keimfrei zu machen sind, wenn diese vollständig trocken sind und in trockenem Milieu bei geringer relativer Feuchtigkeit (unter 28%) sterilisiert werden.

Metallteile, die wir mit Erde infizierten, welche an der Luft getrocknet worden war, sind mit Äthylenoxyd bei einer Einwirkungstemperatur von 65° C, einer Konzentration von 799,2 mg/l nach einer Einwirkungszeit von 60 Minuten steril (vergl. Tab. IV, 2). 30 Minuten Sterilisierungszeit benötigten wir, um angefeuchtete, an Metallteilen haftende Sporenerde keimfrei zu machen (vergl. Tab. IV, 3).

Die Vermutung, dass Äthylenoxyd in mit Watte verstopfte Reagenzgläschen langsamer eindringt, fanden wir nicht bestätigt, denn wir bekamen sowohl bei gestopften als auch bei offenen Röhrchen denselben Sterilisationserfolg.

2) Untersuchungsergebnisse und ihre Bedeutung für die Praxis

Diese Ergebnisse bedeuten, dass Instrumente mit einem Äthylenoxyd-CO₂-Gemisch im Verhältnis 1:10 bei 5 Atm. Überdruck und relativ niederen Temperaturen sterilisierbar sind. Mit diesem neuen Verfahren ergibt sich besonders die Möglichkeit, feingebaute Schneid-, Schleif- und Bohrinstrumente keimfrei zu machen, die bei der Anwendung der Heissluftsterilisationsverfahren an Schärfe einbüßen. Dieses neue Verfahren garantiert innerhalb von 90 Minuten eine einwandfreie Sterilität empfindlicher Instrumente.

Allerdings hat seine Anwendung folgendes zur Voraussetzung:

Ein sicherer Sterilisationseffekt wird nur unter Anwendung eines Druckes von 5 Atm bei Äthylenkonzentrationen um 800 mg/l Einwirkungstemperaturen des verwendeten Gasgemisches zwischen 45 und 65° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit im Druckkessel von mindestens 28% erreicht.

Falls die relative Luftfeuchtigkeit nicht sicher gegeben ist, empfiehlt es sich, die Instrumente und Materialien direkt nach der Reinigung mit Wasser in noch feuchtem Zustand dem Äthylenoxyd auszusetzen oder eine Petrischale mit Wasser in den Druckkessel zu bringen.

Bei der Sterilisation von Injektionsspritzen leistet das Äthylenoxyd mehr, wenn diese in zerlegtem Zustand oder, mit anderen Worten, wenn Kanüle, Stempel und Zylinder einzeln in den Drucktopf gebracht werden.

IV) Äthylenoxyd als Sterilisationsmittel eiweisshaltiger Flüssigkeiten und biologischer Produkte

Es ist bis heute noch nicht möglich, eiweisshaltige Flüssigkeiten, wie z.B. Serum, Blut oder Suspensionen von Hormonen (Insulin), auf chemischem Wege zu sterilisieren. Ebenso ist es unmöglich, tierische Organe, wie sie z.B. für die Frischzellenimplantationen gebraucht werden, mit chemischen Mitteln völlig keimfrei zu machen. Da wir eine ausserordentliche Durchdringungsfähigkeit des Äthylenoxyds feststellen konnten, versuchten wir, experimentell die Frage zu beantworten, ob Serum oder Blut und andere thermolabile biologische Produkte, wie z.B. Antibiotika, mit Äthylenoxyd sterilisierbar sind.

- a) Sterilisation von Blut bzw. Serum mit einem Äthylenoxyd-CO₂-Gemisch 1:10 im Überdruckverfahren

Methodik: 1,0 ml Schüttelblut wurden in Wassermannröhrchen einpipetiert und mit 10 Millionen Keimen infiziert. Als Testkeime verwendeten wir:

1. Staphylococcus aureus haemolytic.
(vegetativer Testkeim)
2. Bac. mesentericus Sporen

Die gefüllten Röhrchen setzten wir, mit Wattestopfen versehen, der Einwirkung des Äthylenoxyds aus.

Tabelle V) Sterilisation von infiziertem Blut durch Äthylenoxyd
Einwirkungstemperatur: + 45° C
Äthylenoxyd-CO₂-Gemisch 1:10 bei 5 Atü. (3
(= 865,6 mg/l)

(1) Abtötung von Staphylokokken in 1 ccm
Blut suspendiert (10 Mill. Keime)

	A*	B*	Ablesung nach
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>	50' 0	+	24 Stdn.
	2	+	48 Stdn.
	50' 0	+	
	1	+	
	75' 0	+	
	0	+	
	100' 15	+	
	Rasen	+	
	125' 0	-	
	0	-	
	150' 0	-	
	0	-	
<u>Kontrolle:</u>	Rasen	+	
	Rasen	+	

(2) Abtötung von Mesentericus Sporen in 1 ccm
Blut suspendiert (10 Mill. Keime/ccm)

	A*	B*	Ablesung nach
<u>Einwirkungszeit</u> <u>in Minuten:</u>	50' Rasen	+	24 Stdn.
	Rasen	+	48 Stdn.
	50' 25	+	
	Rasen	+	
	75' 60	+	
	Rasen	+	
	100' Rasen	+	
	Rasen	+	
	125' 0	-	
	0	-	
	150' 0	-	
	RO	-	
<u>Kontrolle:</u>	Rasen	+	
	Rasen	+	

A* Zahl in dieser Rubrik entspricht der Anzahl der auf einer Blutagar-
platte gewachsenen Kolonien

B* Subkultur in gewöhnlicher Nährbouillon

Aus den Ergebnissen der Tab. V 1 und 2 geht hervor:

Durch Äthylenoxyd werden in Blut suspendierte Keime abgetötet, ohne dass makroskopische Veränderungen des Blutes resultieren. Insbesondere tritt keine Koagulation des Bluteiweisses auf. Blut wird durch unser Äthylenoxydverfahren innerhalb von 125 Minuten von Keimen befreit, gleichgültig, ob das Blut vegetative Keime oder Sporen enthielt. Eine Erklärung für das gleichsinnige Verhalten von vegetativen Keimen und Sporen, die im Blut suspendiert sind, gegen Äthylenoxyd können wir nicht geben.

Diese Ergebnisse bedeuten, dass es mit Äthylenoxyd erstmalig möglich erscheint, auf chemischem Wege Blut, Serum, Körperflüssigkeiten und auch Körpergewebe (z.B. sog. Frischzellen) zu entkeimen.

Es ergab sich hieraus die Frage, ob nicht nur das Eiweiss der Keime, sondern auch das Eiweiss der Körperflüssigkeiten denaturiert wird. Die Frage einer Veränderung biologischer Produkte durch Äthylenoxyd versuchten wir mit folgenden Untersuchungen zu beantworten:

1. Wir prüften, ob sich durch die Äthylenoxydbehandlung der Antikörpergehalt von Immunsera verändert (vergl. Tab. VI).
2. Wir prüften die inaktivierende Wirkung von Äthylenoxyd auf Antibiotika (vergl. Tab. VII).

Tabelle VI)

(1) Der Einfluss von Äthylenoxyd auf den Agglutiningehalt eines Typhus-Immunserums

<u>unbehandelt</u>			<u>nach der Behandlung bei:</u>			
Serumverdünnung			55° C 30 Min.	55° C 60 Min.	55° C 100 Min.	45° C 125 Min.
1: 100	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 200	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 400	+++	+++	++	++	++	+++
1: 800	+++	++	++	+	++	++
1: 1600	++	++	++	±	++	++
1: 3200	+	±	±	0	+	+
1: 6400	±	0	0	0	±	±
1:12800	±	0	0	0	0	0

+++ starke Agglutination
++ deutliche Agglutination
+ schwache Agglutination
0 keine Agglutination

(2) Der Einfluss von Äthylenoxyd auf den Agglutinin-
gehalt eines Paratyphus-B-Immunserums

Serumverdünnung	unbehandelt	nach der Behandlung bei:			
		55° C 30 Min.	55° C 60 Min.	55° C 100 Min.	45° C 125 Min.
1: 100	+++	+++	+++	+++	+++
1: 200	++	++	++	++	++
1: 400	++	++	+	+	++
1: 800	+	+	±	±	+
1: 1600	±	±	0	0	±
1: 3200	0	0	0	0	0

+++ starke Agglutination
++ deutliche Agglutination
+ schwache Agglutination
0 keine Agglutination

Aus der Tab. VI, 1 und 2, geht hervor, dass durch Äthylenoxyd der Agglutiningehalt in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit absinkt. Während bei 55° C Einwirkungstemperatur der Antikörpertiter im Typhus-Serum von 1 : 12800 auf 1 : 1600, im Paratyphus-B-Serum von 1 : 1600 auf 1 : 800 absank, nahm der Agglutinationstiter nach der Einwirkung des Äthylenoxyds bei einer Temperatur von 45° C im Typhus-Serum nur geringfügig von 1 : 12800 auf 1 : 6400, im Paratyphus-B-Serum überhaupt nicht ab.

Diese Ergebnisse bedeuten, dass Äthylenoxyd biologische Produkte (z.B. eiweisshaltige Körperflüssigkeiten) auf chemischem Wege sterilisiert, ohne dass eine starke Minderung der biologischen Eigenschaften zu erwarten ist, sofern eine Schädigung durch die Einwirkungstemperatur ausgeschlossen wird.

Die biologische Aktivität von Antibiotika nach der Einwirkung von Äthylenoxyd prüften wir wie folgt:

Methodik: Auf Antibiotika in Pulverform liessen wir Äthylenoxyd einwirken und untersuchten mit Hilfe des Agar-Diffusionstestes die biologische Wertigkeit dieser Stoffe vor und nach der Behandlung. Dabei erhielten wir folgende Ergebnisse:

Tabelle VII) Der Einfluss von Äthylenoxyd auf die Aktivität pulverförmiger Antibiotika.

(Radius der Wachstumshemmungszonen in mm)

(1) Die biologische Aktivität von Penicillin-G-Natrium.

<u>unbehandelt</u>	<u>nach der Behandlung bei:</u>	
	<u>55° C</u> 100 Min.	<u>45° C</u> 125 Min.
15	14	14
12	13	12
9	10	9

(2) Die biologische Aktivität von Streptomycin

(Radius der Wachstumshemmungszonen in mm)

<u>unbehandelt</u>	<u>nach der Behandlung bei:</u>	
	<u>55° C</u> 100 Min.	<u>45° C</u> 125 Min.
8/7	7	7/6
7	6	6
5	5	5/4

(3) Die biologische Aktivität von Tetracyclin

(Radius der Wachstumshemmungszonen in mm)

<u>unbehandelt</u>	<u>nach der Behandlung bei:</u>	
	<u>55° C</u> 100 Min.	<u>45° C</u> 125 Min.
7	7	7
6	6	5
3	4	4

Aus der Tab. VII, 1,2 und 3, geht hervor, dass Antibiotika, die in Pulverform bei geringer relativer Luftfeuchtigkeit (unter 2%) der Einwirkung des Äthylenoxyds ausgesetzt werden, keinen deutlichen Wirkungsverlust aufweisen.

Hierdurch werden die Ergebnisse von KAYE, IRMINGER und PHILIPPS (21), die Penicillin im Vakuumverfahren mit Äthylenoxyd behandelten, bestätigt.

V) Zusammenfassung

Gasförmiges Äthylenoxyd ist zur chemischen Sterilisation von Instrumenten, Materialien und Flüssigkeiten geeignet. Die erforderlichen Konzentrationen betragen bei Einwirkungszeiten von 4 - 6 Stunden 40 - 60% Äthylenoxyd. Derartig hochkonzentrierte Luftgemische besitzen den für die Praxis so bedeutsamen Nachteil der Entflammbarkeit. Dieser Nachteil kommt einem im Hygiene-Institut Mainz entwickelten Verfahren, das mit einem Äthylenoxyd-CO₂-Gemisch im Verhältnis 1:10 und einem Überdruck von 5 Atm. arbeitet, nicht mehr zu.

Dieses Verfahren gestattet eine Verkürzung der Einwirkungszeiten von 4 - 6 Stunden auf 2 Stunden. Allerdings hat seine Anwendung die Voraussetzung, dass die relative Luftfeuchte des Gasgemisches mindestens 28% betragen muss.

Die von uns angewendete Methode eröffnet erstmalig die Möglichkeit, Blut, Serum und andere eiweißshaltige Körperflüssigkeiten auf chemischem Wege zu sterilisieren, ohne dass eine deutliche Veränderung der biologischen Eigenschaften erkennbar ist.

Wie bei allen Sterilisationsverfahren müssen auch beim Überdruckverfahren mit Äthylenoxyd die notwendigen Einwirkungszeiten und Einwirkungstemperaturen für jede Sterilisationsaufgabe experimentell ermittelt werden.

S c h r i f t t u m

- (1) Angla, B. Sur l'emploi de l'oxide d'éthylène en denologie. Compt. Rend. Acad. Agrar. France, 1939,25:73-76.
- (2) Baer, I.M. Method of fumigation of organic products. U.S. Patent 2,229,360 (1947).
- (3) Balzer, A.J. Insect pests of stored rice and their control. U.S. Dept. Agric. Farmers Bull. No.1906 (1942).
- (4) Bodforss, S. Die Äthylenoxyde. Ihre Darstellung und Eigenschaften. Stuttgart 1920, pp. 202.
- (5) Cotton, R.T., and Roark, R.C. Ethylene oxide as a fumigant. Indust. Eng. Chem., 1928, 20:805.
- (6) Deckert, W. Bestimmung des Äthylenoxyds bei Durchgasungen mit äthylenoxydhaltigen Präparaten. Ztschr. anal. Chem., 1930, 82: 297-307.
- (7) Derselbe. Zur massanalytischen Äthylenoxydbestimmung. Ztschr. anal. Chem., 1937, 109: 166-168.
- (8) Fraenkel-Conrat, H.L. Action of 1,2 - epoxides on proteins. Jour. Biol. Chem. 1944, 154:227-238.
- (9) Graeves-Walker, W.J., and Greeson, C.E. The toxicity of ethylene oxide. Journ. Hyg., 1932, 32: 409-416.
- (10) Griffith, C.L., and Hall, L.A. Sterilization process. U.S. Patent 2, 189, 947 (1940).
- (11) Derselbe. Sterilization process. U.S. Patent Re. 22,284 (1943).
- (12) Derselbe. Sterilization of pancreatin. U.S. Patent 2, 189, 948 (1940).
- (13) Derselbe. Sterilizing colloid materials. U.S. Patent 2, 189, 949 (1940).
- (14) Gross, P.M., and Dixon, L.F. Method of sterilizing. U.S. Patent 2, 075, 845 (1937).
- (15) Hansen, H.N., and Synder, W.C. Gaseous sterilization of biological materials for use as culture media. Phytopathology, 1947, 37: 369-371.
- (16) Hall, I.A. Sterilized spices: New factor in food quality control. Food Industries, 1938, 10:424-425, 464-467.
- (17) Jones, G.W., and Kennedy, R.E. Extinction of ethylene oxide fumes with carbon dioxide. Indust. Eng. Chem., 1928, 20:805.
- (18) Dieselben, Extinction of ethylene oxide fumes with carbon dioxide. Indust. Eng. Chem., 1930, 22:146-147.
- (19) Kaye, S. and Phillips, R.C. The sterilizing action of gaseous ethylene oxide. IV. The effect of moisture. Am. Journ. Hyg. 1949, 50:296-306.
- (20) Derselbe. The sterilizing action gaseous ethylene oxide. III. The effect of ethylene oxide and related compounds upon bacterial aerosols. Am. Journ. Hyg. 1949,50:290-295.
- (21) Kaye, S., Irminger, H.F., Phillips, C.R. The sterilization of Penicillin and Streptomycin by ethylene oxide. Journ. of Laboratory and Clinical Medicine. 40:67-72 (1952).
- (22) Kliewe, H. and Lammers, Th. Die keimtötende Wirkung von Äthylenoxyd. Der praktische Schädlingbekämpfer. 1956,5:51-52.
- (23) Lubatti, O.F. Determination of ethylene oxide. Journ. Soc. Chem. Indust., 1932, 51:361-367.
- (24) Mc. Cormick and Co. Personal Communication 1947.

- (25) Mrak, E.M. The deterioration of dates. Rept. Ann.Date Growers Inst. (Coachella Valley, California) 1941, 18:3-4.
- (26) Phillips, C.R., and Kaye, S. The sterilizing action of gaseous ethylene oxide. Am. Journ. Hyg. 1949, 50:296-306.
- (27) Dieselben. The sterilizing action of gaseous ethylene oxide. I. Review. Am. Journ. Hyg., 1949, 50:270-279.
- (28) Phillips, C.R. The sterilizing action of gaseous ethylene oxide. II. Sterilization of contaminated objects with ethylene oxide and related compounds: time, concentration and temperature relationships. Am. Journ. Hyg. 1949, 50: 280-288.
- (29) Roberts, J.L., Allison, L.E., Prickett, P.S., and Riddle, K.B. Preliminary studies on soil sterilization with ethylene oxide. Journ. Bact., 1943, 45:40.
- (30) Schrader, H., and Bossert, E. Fumigant composition. U.S. Patent 2,037, 439 (1936).
- (31) Sexton, R.J., and Henson, E.V. Experimental ethylene oxide human skin injuries. Arch. Indust. Hyg. 2:549-564 (1950).
- (32) Stehle, R.L., Bourne, W., and Lozinsky, E. Über die pharmakologische Wirkung von Äthylenoxyd. Arch. Exper. Path. and Pharm., 1924, 104:82-86.
- (33) Velu, H., Lepigre, A., und Bellocq, P. Action bactériocide de l'oxide d'éthylène à l'état gazeux. Bull. Acad. Méd. (Paris) 1942, 126:62-64.
- (34) Waite, C.P., Patty, F.A., and Yant, W.P. Acute response of Guinea pigs to vapors of some new commercial organic compounds. IV. Ethylene oxide. U.S. Public Health Reports, 1930, 45:1832-1843.
- (35) Whelton, R., Phaff, H.J., Mrak, E.M., and Fisher, C.D. Control of microbiological food spoilage by fumigation with epoxides. Food Indust., 1946, 18:23-25.
- (36) Yesair, J., and Williams, O.B. Spice contamination and its control. Food Research, 1942, 7:118-126.
- (37) Young, H.D., and Busbey, R.L. References to the use of ethylene oxide for pest control. U.S. Dept. Agric. Bureau of Entomol. and Plant Quarantine, April 1935.

Zum Schluss erlaube ich mir, den Herren

Prof. Dr. H. Kliewe

Direktor des Hygiene-Instituts der Universität Mainz

und

Privatdozent Dr. med. Theo Lammers

für die Überlassung des Themas und die Durchsicht und
Förderung der Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

L e b e n s l a u f

Ich, Peter Jürgen Kimmich, Sohn des Chemikers Dr. ing.
Carl Kimmich, bin am 7. Juni 1932 in Stuttgart -
Bad Cannstatt geboren.

Nach Besuch der Martin Luther Volksschule und Absolvierung
der Gottlieb Daimler Oberrealschule in Bad Cannstatt wurde
mir im Frühjahr 1952 das Zeugnis der Reife ausgehändigt.

Ich immatrikulierte mich im Sommersemester 1952 an der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz, gehörte zwei Se-
mester der naturwissenschaftlichen Fakultät an und studierte
Chemie. Im Sommersemester 1953 wendete ich mich dem zahn-
ärztlichen Fachstudium zu und bestand Ende Oktober 1954
das Physikum an der hiesigen Universität.

Während der vier klinischen Semester verblieb ich an der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz und bestand am
28. März 1956 das zahnärztliche Staatsexamen.

